

論壇

概日時計の乱れの性差と時間栄養学

九州大学大学院農学研究院教授

安尾しのぶ

はじめに

時間栄養学とは、生体のリズムと食事・栄養の相互関係を広く探究する研究分野である。生体リズムの代表例は約 24 時間周期の概日リズムであるが、他にも性周期や季節周期などの様々なリズムが含まれる。中でも概日リズムを制御する概日時計の研究が活発に進む。1980 年代から 1990 年代にかけて時計遺伝子の転写・翻訳フィードバックループによるリズム発振機序が詳細に解明され、2017 年にノーベル生理・医学賞の受賞対象となった。さらに、不規則な明暗周期や夜間の過剰な照明の使用、慢性的な夜ふかしなどにより概日時計の乱れや機能破綻が生じる機序、概日時計の乱れと各種疾患リスクとの関連が疫学調査や動物実験で広く明らかとなった。これに伴い、現代社会における概日時計の乱れの予防改善を担う研究の社会的要請が高まり、食を介した健康増進を目指す栄養学および食生活学と結びついて発展した分野が時間栄養学である。図 1 に示すように、概日リズム研究 (circadian) の論文数は 1980 年以降コンスタントに蓄積されているが、栄養学との融合 (circadian and nutrition) に関する論文数は 2010 年以降に急速に増えている。

時間栄養学の研究領域は、概日時計に合わせた食事のタイミング、食事の栄養バランスと概日時計の関連、栄養素や機能性食品因子の時刻依存的な生体調節効果など多岐にわたる。研究対象も多様であり、齧歯類や細胞を用いた基礎研究から、ヒトを対象とした基礎研究および大規模な疫学調査などが広く推進されている。実践的な食事・栄養管理を主眼とする研究も盛んに行われ、社会応用・実装化に向けた産学連携研究も活発である。このような応用研究を展開する際に忘れてはならない点は、概日時計は生物が進化の過程で地球のリズムに適応進化して形成されてきた点である。すなわち、概日時計は基本的に地球の昼夜リズムに最適化されており、その本来の強靱なしくみを活かすという観点である。単に「x 時に y を食べると良い」という表面的な知見に留まるの

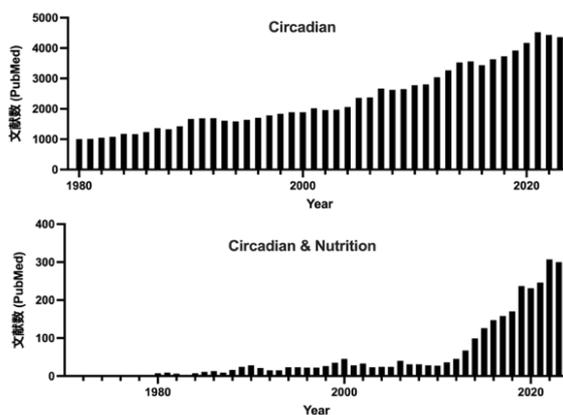


図 1 概日時計と栄養関連の文献数の推移

ではなく、概日時計の生物学的なメカニズムに基づいた食事・栄養の取り方を探索することが重要である。生物学的メカニズムに即した研究開発を進める上では、齧歯類などの動物モデルを用いた基礎研究によるエビデンスの蓄積が不可欠である。

齧歯類を用いた研究により、食事タイミングの違いが代謝や脳機能に影響することやそれらのメカニズム、概日時計を調節する食品因子などが広く解明されてきた。しかし、2010年代までの多くの研究では、性周期の影響を受けないオス動物が主に使用され、メス動物での研究は限定的であった。この状況は欧米諸国を中心として見直され、2010年頃以降、研究開発に性差の視点を組み込む動きが活発化している (Clayton and Collins, 2014; Heidari et al., 2016)。現在では主要な雑誌の多くが Sex and Gender Equity in Research ガイドラインに準拠し、論文投稿時に性差の考慮を要求している。日本では遅れをとっているが、第6期科学技術・イノベーション基本計画 (2021年)、第5次男女共同参画基本計画にて、性差を考慮した研究や開発プロセスの実施推進を定めている。時間栄養学分野で性差を考慮するためには、概日時計のしくみや不規則な明暗周期との相互作用が生物学的性によりどのように異なるのかを明らかにする必要がある。本稿では、概日時計のしくみおよび明暗周期の乱れに対する応答性の性差に焦点を当て、私たちの研究グループの最近の成果を紹介する。

概日時計のしくみと性差

概日時計は約 24 時間リズムを刻む内因性の生物時計であり、睡眠-覚醒リズムや体温・血圧・ホルモンリズムなどを出力している。脳の視交叉上核にペースメーカーが存在し、神経連絡や内分泌経路を介して全身のリズムを統括している。各種臓器にも末梢時計が存在し、それぞれを構成する細胞の一つ一つにも細胞時計がある。すなわち、概日時計は細胞時計から神経核や末梢時計、そして多臓器連関にわたる階層構造になっている。通常の状態では、全身の概日時計がカップリングして適切な時刻情報の元で機能している。しかし、時差ぼけや様々な外的かく乱条件によりカップリングが解けると「内的脱同調」の状態となる。例えば、脳と末梢臓器の概日時計が異なる時刻を示すようなケースである。明暗周期は視交叉上核のペースメーカーを通じて概日時計をリセットするが、食事リズムは視交叉上核以外の神経核やインスリン分泌等を通じて、行動リズムや末梢時計などを制御する。したがって、夜行性動物の休息期である明期のみ給餌するような条件では、明暗周期と食事リズムのずれにより脱同調状態が誘導されて、代謝異常や疾病リスクの一因となる。

細胞の概日リズムは時計遺伝子の転写・翻訳フィードバックループで制御されており、ほとんど全ての細胞・組織において、時計遺伝子の発現は約 24 時間周期を示す。時計遺伝子は転写因子であり、概日リズムの振動体を形成すると同時に、様々な生理機能を有する遺伝子の発現に概日リズムをもたらす。一般的に、様々な臓器で発現に概日リズムを示す遺伝子は、数パーセント程度である。なお、マウスの様々な組織でプロテオミクス解析が行われた結果、遺伝子発現よりも多くのタンパク質に概日リズムが検出された (~16 パーセント; Zhang et

al., 2014)。これには、mRNA の分解速度や安定性の調節、RNA プロセッシングなどの転写後調節を介したリズム制御機序が関連する。

概日時計は生殖機能の調節にも重要な役割を持つため、精巣や卵巣からの性ホルモン分泌とのクロストークがある。すなわち、概日時計が性ホルモン分泌の概日リズムを制御するとともに、性ホルモンが概日時計への入力因子としても機能する。このため、概日時計の機能には顕著な性差が存在する。性ホルモンと行動リズムの研究は古くから進み、精巣摘出動物や卵巣摘出動物における行動リズムの変化、またそれらの動物にエストラジオールやテストステロンを慢性投与した際の行動リズムの回復などが数多く報告されている。これらの性ホルモンの受容体は、視交叉上核やその投射・入力神経核、末梢臓器などに性依存的な分布を示すことが知られる。性ホルモンの分泌量・受容体発現量ともに、加齢や性周期によって変化するため、性差にはライフステージの影響の考慮も欠かせない。

概日時計の乱れと性差

シフトワーカーなどを対象とした疫学調査や動物実験により、不規則な明暗周期や生活リズムにより概日時計の機能が乱れた結果、肥満、糖尿病、メタボリック症候群、心血管障害、悪性腫瘍などのリスクが上昇することが解明されてきた。しかし、ヒトの性別による影響の違いについては、研究結果に一貫性がない。例えば、シフトワーカーでは男性のみで肥満・糖尿病のリスクが高いという報告や、逆に女性でリスクが高いという報告などが発表されている。これらの違いには、シフト勤務スケジュール、食事摂取パターン、運動習慣など多くの要因が関与している可能性が考えられる。一方で、ある程度環境を統一できる実験室での試験では、より生物学的な影響を評価可能である。例えば、男女の被験者を対象として実験室で行われた模擬的夜勤実験では、食欲抑制ホルモンであるレプチンの分泌量が女性では減少するが男性では増加することや、食物嗜好性が男女で異なることが示された (Qian et al., 2019)。しかし、ヒトでは遺伝的多様性があり生育環境も極めて多様であるため、それらの交絡要因が関与する可能性が否めない。明暗環境が体内時計に及ぼす影響を明確に明らかにするためには、遺伝的背景や飼育環境を統一した動物実験が必要である。

主にマウスやラットにおいて、飼育環境の明暗周期を変化させることで、概日時計の乱れを誘導する実験パラダイムが確立されている。例えば、一日中点灯し続ける「恒明条件」、12 時間明期・12 時間暗期の明暗周期のうち暗期を薄明るくする「夜間薄明条件」、概日時計が同調不可能なサイクルで明暗条件を設定する「脱同調条件 (20 時間サイクル; 10 時間明期・10 時間暗期など)」、通常の 12 時間明期・12 時間暗期を数日おきに 6-8 時間シフトさせる「慢性的時差ぼけ条件」などが挙げられる。これらの条件はしばしば給餌リズムの設定と組み合わせて動物に与えられ、不適切な明暗周期と食事リズムの関連を調べる実験にも活用される。上記に挙げた実験パラダイムで一貫して検出される生体変化は、体重の過剰な増加を始めとするメタボリック症候群の症状である。しかし、これらの実験のほとんどはオス動物のみを用いており、メス動物との比較研究は非常に少ない。

慢性的時差ぼけが概日時計と代謝に及ぼす影響の性差

私たちの研究グループでは、マウスを用いて概日時計の乱れの性差を明らかにする研究を進めてきた (Ma et al., 2024)。隔日で明暗周期を 6 時間ずつ前進させる慢性的時差ぼけ条件において、雌雄のマウス系統 (C57BL/6N) の体重や深部体温リズム、時計遺伝子発現リズムへの影響を調査した。興味深いことに、オスの体重は対照群に比べて増加した一方で、メスの体重は対照群よりも減少した。雌雄のマウスともに、慢性的時差ぼけ条件による摂食量への影響は認められなかった。体内埋め込み型ロガーを用いて深部体温リズムを解析したところ、概日リズムの強度を示す値 (Qp value) がメスのみで低下した。肝臓・副腎の時計遺伝子発現リズムを調べたところ、多くの遺伝子のリズム振幅が慢性的時差ぼけ条件によりメスのマウスで特に低下することが判明した。オスのリズムはわずかに低下したものの、明瞭なリズムが維持されていた。これらの結果は、メスのほうがオスよりも脳や末梢臓器の概日時計が慢性的時差ぼけに対して脆弱であることを示唆する。

次に、概日時計が制御する肝臓の糖・脂質代謝遺伝子の発現を解析したところ、オスとメスで顕著に異なる影響がみられた。糖負荷試験を行った結果、意外なことにメスでは糖耐性が正常に維持されており、オスのみで糖耐性低下が見られた。インスリン負荷試験の結果、インスリン感受性は雌雄ともに正常であったが、グルコース応答性インスリン分泌能はオスのみで低下していた。また、雌雄ともに通常の血糖値は正常に維持されており、オスのみで血中インスリン濃度の亢進や肝臓のグリコーゲン蓄積量の増加がみられた。これらの結果より、メスのほうがオスよりも概日時計が乱れやすいにも関わらず、代謝経路にはインスリンや性ホルモンの作用が重なることで、複雑な影響が生じることが示唆された。さらに、慢性的時差ぼけによりオス動物で誘導される代謝変化は、肥満・糖尿病で一般的にみられるインスリン抵抗性を伴わず、インスリン分泌能やグリコーゲン代謝の変化が関与する可能性が考えられた。

私たちはさらに、慢性的時差ぼけ条件での概日時計や代謝の変化に対するテストステロンの役割を明らかにする実験を行った。精巣を摘出したオスのマウスにおいて、テストステロンを生理学的な濃度で持続的に放出するシリコンチューブ、あるいは溶媒のみを入れたシリコンチューブを腹腔内に埋め込み、慢性的時差ぼけ条件での深部体温リズムや体重の変化を解析した。その結果、精巣を摘出して溶媒のチューブを埋め込んだオスでは、メスで見られたような慢性的時差ぼけ条件での深部体温リズムの強度低下、体重減少、糖耐性の維持がみられた。このような「メス型」の反応性は、テストステロンのチューブを腹腔内に埋め込むことにより消失し、深部体温リズムの維持、体重増加、糖耐性低下といった「オス型」の反応性が回復した。以上の結果より、テストステロンの働きがオス特有の慢性的時差ぼけ反応の鍵であることが解明された。

おわりに

私たちの研究グループが明らかにした結果は、慢性的な時差ぼけ環境における体内時計の乱れや代謝異常の性差を、マウス実験で初めて明確に示したものである。従来、「時差ぼけは太る」と認識されてきたが、飼育環境・栄養環境を統一した実験では、オスマウスでは対照群に比べて体重が増加する一方で、メス動物では減少することが見いだされた。これらの影響はマウスの遺伝的背景や飼育条件により異なると予想される。私たちは C57BL/6J 系統でも同様の実験を行ったところ、オスでは慢性的時差ぼけ条件による体重変化が見られず、メスでは体重が減少する結果が見られた。さらに、別グループによる最近の研究では、高脂肪食を給餌した C57BL/6J マウスでは、メスのほうがオスよりも肝臓の概日時計が強靱であることが明らかとなった (Anderson et al., 2023)。つまり、栄養条件によって概日時計の強靱性の性差が大きく変化する可能性も考えられる。

今回紹介した結果はマウス実験の結果であり、ヒトでも同様の性差や性ホルモンによるメカニズムが存在するか否かは不明である。ヒトでは明暗環境の生物学的な影響に加えて、ストレスによる過食や嗜好性の変化、運動量の変化、アルコール摂取・喫煙の変化などが重なり、複雑な影響が生じていると考えられる。性別により、これらの変化や体内時計との相互作用も異なることが予想される。以上の可能性を踏まえて、不規則な生活になりがちであるシフトワーカーや夜ふかし習慣のある人などの健康管理において、性差を考慮した適切な時間栄養学による対処法の開発が期待される。今後、様々な栄養状態や食事リズムにより、概日時計の乱れがどのように影響を受けるかを性別ごとに解明することで、適切な対処法を創出する手がかりとなるであろう。

参考文献

- Anderson, S. T., H. Meng, T. G. Brooks, S. Y. Tang, R. Lordan, A. Sengupta, S. Nayak, A. Mrela, D. Sarantopoulou, N. F. Lahens, A. Weljie, G. R. Grant, F. D. Bushman, and G. A. FitzGerald. 2023. Sexual dimorphism in the response to chronic circadian misalignment on a high-fat diet. *Sci Transl Med* 15:eabo2022.
- Clayton, J. A., and F. S. Collins. 2014. Policy: NIH to balance sex in cell and animal studies. *Nature* 509:282-283.
- Heidari, S., T. F. Babor, P. De Castro, S. Tort, and M. Curno. 2016. Sex and Gender Equity in Research: rationale for the SAGER guidelines and recommended use. *Res Integr Peer Rev* 1:2.
- Ma, T., R. Matsuo, K. Kurogi, S. Miyamoto, T. Morita, M. Shinozuka, F. Taniguchi, K. Ikegami, and S. Yasuo. 2024. Sex-dependent effects of chronic jet lag on circadian rhythm and metabolism in mice. *Biol Sex Differ* 15:102.

- Qian, J., C. J. Morris, R. Caputo, W. Wang, M. Garaulet, and F. Scheer. 2019. Sex differences in the circadian misalignment effects on energy regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:23806–23812.
- Zhang, R., N. F. Lahens, H. I. Ballance, M. E. Hughes, and J. B. Hogenesch. 2014. A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:16219–16224.